

Células MCA-3D | 400437

Información general

Description

La línea celular MCA-3D se deriva de cultivos epidérmicos primarios de ratón que muestran resistencia a la diferenciación terminal inducida por el calcio. Estas células se trataron inicialmente con los carcinógenos N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG) o 7,12-dimetilbenz[a]antraceno (DMBA), y posteriormente se expusieron al 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA). La resistencia a la diferenciación terminal se evaluó elevando los niveles de calcio en el medio de cultivo a 1,2 mM, lo que permite selectivamente el crecimiento de células transformadas, mientras que las células normales suelen sufrir diferenciación terminal y muerte.

La línea celular MCA-3D presenta una morfología epitelial y forma colonias bien definidas en cultivo. El análisis ultraestructural revela que las células MCA-3D contienen filamentos de queratina y desmosomas, lo cual es indicativo de su origen epitelial y sugiere el mantenimiento de cierto grado de diferenciación queratinocítica normal. Sin embargo, la abundancia exacta de estas estructuras puede variar entre las subpoblaciones dentro de la línea.

Se ha evaluado la tumorigenicidad de las células MCA-3D mediante inyección subcutánea en neonatos Balb/c singénicos, y los resultados indican que esta línea no es tumorigena, incluso después de un cultivo prolongado en condiciones de alto contenido de calcio. Además, las células MCA-3D no crecen en agar blando, lo que respalda aún más su fenotipo no maligno. Los ensayos bioquímicos para determinar la actividad de la gamma-glutamyl transpeptidasa (GGT) y la transglutaminasa han demostrado que las células MCA-3D son negativas para la GGT, y que su actividad transglutaminasa no se correlaciona con el potencial tumorigénico, lo cual concuerda con su clasificación como no tumorigénicas.

En general, la línea celular MCA-3D sirve como modelo para estudiar las etapas tempranas de la carcinogénesis y los factores que influyen en la progresión de las lesiones preneoplásicas a tumores totalmente malignos.

Organism Ratón

Tissue Piel

Synonyms MCA3D, MCA3D, MCA/3D, MCA 3D

Características

Breed/Subspecies BALB/c

Gender Mujer

Cell type Queratinocito

Growth properties Adherente

Datos normativos

Células MCA-3D | 400437**Citation** MCA-3D (número de catálogo de Cytion 400437)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5797**Datos biomoleculares****Manejo****Culture Medium** F12 de Ham, con: 1,0 mM de glutamina estable, con: 1,0 mM de piruvato de sodio, con: 1,1 g/L de NaHCO₃ (número de artículo de Cytion 820600a)**Supplements** Añade al medio un 10 % de FBS**Dissociation Reagent** TrypLE Express**Subculturing** Retira el medio y enjuaga las células adheridas con PBS sin calcio ni magnesio (3-5 ml de PBS para frascos de cultivo celular T25, 5-10 ml para frascos T75). Agrega TrypleExpress (1 a 2 ml por frasco de cultivo celular T25, 2,5 ml por frasco T75); la capa celular debe quedar completamente cubierta. Incuba a 37 grados Celsius durante 15 a 20 minutos. Resuspende cuidadosamente las células con medio (10 ml), centrifuga durante 5 minutos a 300 x g, resuspende las células en medio fresco y distribúyelas en frascos nuevos que contengan medio fresco.**Seeding density** De 0,5 a 1×10^4 células/cm²**Fluid renewal** De 2 a 3 veces por semana**Post-Thaw Recovery** Después de descongelarlas, siembre las células a una densidad de 5×10^4 células/cm² y deje que se recuperen del proceso de congelación y se adhieran durante al menos 24 horas.**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células MCA-3D | 400437

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente. El almacenamiento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Células MCA-3D | 400437

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.